

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011 年 ～ 2012 年

課題番号：23890063

研究課題名（和文） GCF 中のタンパク質から歯肉増殖症の病態を探る

研究課題名（英文） Molecular biological factors in drug-induced gingival overgrowth

研究代表者

清水 太郎（ SHIMIZU TARO ）

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：60609121

研究成果の概要（和文）：マルチプレックスサスペンションシステムを用いて歯肉増殖症の歯肉溝浸出液を採取して、そのメカニズム解析を行った。その結果歯肉増殖症部位で特異的に発現したいくつかの因子（細胞増殖因子・細胞接着因子・炎症性サイトカイン）、またこれらの因子間の関連性について国際学会（第 98 回 American Academy of Periodontology）で発表を行った。Interleukin (IL)-8 は有意差を示し、IL-1beta, TGF-beta, VEGF-A など関連が強いことが示された。

研究成果の概要（英文）：Gingival crevicular fluid (GCF) was extracted from gingival overgrowth sites and analyzed using a Multiplex suspension array system. A number of specifically expressed cellular growth factors, cell attachment factors, and inflammatory cytokines were examined from GO sites. The results showed significantly up-regulated levels of IL-8, as well as elevated levels of IL-1 beta, TGF-beta, and VEGF-A. Those results were reported at the American Academy of Periodontology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯学

科研費の分科・細目：7403 歯学・病態科学系歯学

キーワード：歯肉増殖症、歯肉溝浸出液、マルチプレックスサスペンションアレイ

1. 研究開始当初の背景

1) 歯肉増殖症についての動向および

位置づけ

近年の急速な社会人口高齢化は、歯周病や高血圧症といった生活習慣病の増加を招いている。それに伴い、降圧

剤を服用する歯周炎患者も増え、歯肉の線維性増殖と炎症を伴う Ca 拮抗薬剤性歯肉増殖症(GO)の増加につながっている。

これまでに歯肉増殖症については、*in vitro* (Salo et al. J Oral Pathol Med 1990, Johnson et al. J Oral Pathol Med 2003)や動物実験での報告 (Kataoka et al. J Periodontol 2001, Spolidorio et al. J Periodont Res 2003)がなされている。また、申請者の講座においても遺伝子発現 (Kubota et al. 2008)や遺伝子多型 (Ogino et al. 2005)の側面から解析が続けられてきたが、未だ病因究明には至っていない。

申請者の講座では、歯周炎の病因を解明すべく、かねてより歯周組織の代謝で最も重要といわれる MMPs 及びそのインヒビターである TIMPs のバランスに着目し研究してきた (Nomura et al. 1993, Kubota et al. 1996, 1997, 2004, 2008, 2009, Itagaki et al. 2004)。

申請者もそれら研究をさらに発展させ、GO 組織において TIMP-3, -4 が遺伝子およびタンパクレベルで上昇していることを報告している (Nakasone et al. 2009)。また、GO 罹患歯肉組織中の全 RNA 遺伝子 (Transcriptome) をマイクロアレイにより網羅的解析し、GO の発症に MMP-1 を始めとする炎症関連遺伝子が関与していることを明らかにした (Shimizu et al. Arch Oral Biol 2011)。

申請者はこれら結果を踏まえた上で、次のステップとして遺伝子発現レベルからタンパク質レベルでの研究が必要と考え、本研究の着想に至った。

GCF は臨床検体として簡便に採取可能かつ歯肉組織と同様に病態を反映し、診断に有効であることが知られている。また、歯周ポケットの深さにより分泌されるサイトカイン量に差異があることが知られている。しかしながら、現在までに GO に関して GCF を用いた報告は数少ない。また、それら報告も数種類のサイトカイン等を各々調べたものに過ぎず、包括的な報告は皆無である。

2. 研究の目的

降圧薬として用いられるカルシウム (Ca) 拮抗薬は薬剤性歯肉増殖症(GO)を誘発することが知られているが、未だその病因は完全には解明されていない。本研究では、Ca 拮抗薬剤性歯肉増殖症罹患歯肉の歯肉溝滲出液 (GCF) におけるサイトカイン、細胞接着因子、細胞増殖因子、マトリックスメタルプロテアーゼを測定し、各種因子間の相関関係を解析することを目的とする。また、それらが GO の病態形式に関与する機序を検証する。

3. 研究の方法

インフォームドコンセントが得られた被験者 (同一人物における GO 部位および慢性歯周炎 (CP) 部位の 2 か所) から GCF を採取する。微量体液中から多項目のタンパク質量を同時かつ高感度に定量できる画期的な ELISA システムであるマル

チップレックス・サスペンション・アレイ・システムを用いることで各検体から 14 項目の GO 関連因子について解析する。炎症性サイトカイン及び抗炎症性サイトカイン：interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8、細胞接着因子：intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、細胞増殖因子：Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), Fibroblast growth factor (FGF-basic)、Matrix metalloproteinase：MMP-1, MMP-3, -12, -13、トランスファージ増殖因子：Transforming growth factor-beta、腫瘍壊死因子：Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) のタンパクレベルを解析する。

GO 被験者における GO 部位の治療前後比較と GO 部位と CP 部位の治療前後の比較検討を行う。また同時に PCR-Invader 法による歯周病原細菌検査も行い、細菌叢 (*Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*), *Tannerella forsythia* (*T. f.*), *Treponema denticola* (*T. d.*)) と定量された関連因子との相関関係も明らかにする。

以上より本法を応用することで、GCF 中のサイトカインバランスや相互作用などこれまで解析不可能であった点を明らかにすることが可能となる。

4. 研究成果

いくつかの選定した因子において歯肉増殖症と関連を示した。

GO 部位の治療前後比較において IL-8 は有意に減少を示した。また、IL-1beta, TGF-beta でも減少傾向を示した。更に GO 部位と CP 部位比較においては IL-8,

VEGF- α で増加傾向を示した。また、これまでに IL-6 と VEGF との関連について報告が成されており、今回の我々の結果においてもその傾向は示された。この関係は、これまでの報告と近似するものであった。また細菌検査では 3 菌種のうち *T.d* 菌における治療前 GO 部位と治療前 CP 部位の比較において GO 部位で多く検出された。これまでの細菌と歯肉増殖症との関連報告と同様のものであった。

以上の結果を踏まえて昨年度国際学会 (第 98 回 American Academy of Periodontology) で発表を行った。

今後、以上を踏まえて更なる因子間のネットワークや相互作用、過剰な増殖細胞増幅のメカニズムの解明、GO 予防や治療解析への一助となるよう解析を進めて論文として報告する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Tomita T, Kubota T, Nakasone N, Morozumi T, Abe D, Maruyama S, Shimizu T, Horimizu M, Saku T, Yoshie H. Gene and protein localisation of tumour necrosis factor (TNF)- α converting enzyme in gingival tissues from periodontitis patients with drug-induced gingival overgrowth. Arch Oral Biol. 2013 Mar 16

[学会発表] (計 1 件)

1. Shimizu T, Kubota T, Iwasaki M, Morozumi T, Nakasone N, Yoshie H: Molecular biological factors in drug-induced gingival overgrowth. 第 98 回 American Academy of Periodontology. Los Angeles, U. S. A,

September 29- October 2, 2012..

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 太郎 (SHIMIZU TARO)
新潟大学・医歯学総合病院・医員
研究者番号：60609121

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：